



original article | UDC 616.99:614.48:615.9:636.065 | doi: 10.31210/visnyk2022.03.20

## DETERMINATION OF THE EFFECTS OF THE BACTERICIDAL EFFECT ON *E. COLI* BACTERIA OF THE NEW DISINFECTANT "DIOLAYD", ITS PHENOL COEFFICIENT AND PROTEIN INDEX

<i>O. Chechet</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0001-5099-5577">id 0000-0001-5099-5577</a>
<i>V. Kovalenko</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0002-2416-5219">id 0000-0002-2416-5219</a>
<i>O. Gorbatyuk*</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0002-0573-2089">id 0000-0002-0573-2089</a>
<i>O. Gaidei</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0003-4503-4047">id 0000-0003-4503-4047</a>
<i>O. Kravtsova</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0003-2119-7749">id 0000-0003-2119-7749</a>
<i>B. Andriyashchuk</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0002-0983-9297">id 0000-0002-0983-9297</a>
<i>I. Musiets</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0002-2456-560X">id 0000-0002-2456-560X</a>
<i>D. Ordynska</i>	ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0003-3481-3248">id 0000-0003-3481-3248</a>

State Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary-Sanitary Examination, str. 30 Donetska St., Kyiv, 03151, Ukraine

\*Corresponding author

E-mail: Goroliva@ukr.net

### How to Cite

*Chechet, O., Kovalenko, V., Gorbatyuk, O., Gaidei, O., Kravtsova, O., Andriyashchuk, B., Musiets, I., & Ordynska, D. (2022). Determination of the effects of the bactericidal effect on E. coli bacteria of the new disinfectant "Diolayd", its phenol coefficient and protein index. Bulletin of Poltava State Agrarian Academy, (3), 150–158. doi: 10.31210/visnyk2022.03.20*

*Due to the spread of resistance of microorganisms to many disinfectants, the search for new, effective and cheap means is urgent. The purpose of the work was to determine the time exposure, effective bactericidal concentration, lack of bacteriostatic effect of the new disinfectant "Diolide" for its action on the test culture E. coli ATSS 25922; determination of phenolic coefficient and protein index. Determination of bacteriostatic properties and optimal bactericidal concentration of Diolaid was carried out with working solutions of 0.04 (100 mg/dm<sup>3</sup> of chlorine dioxide); 0.06 (150 mg/dm<sup>3</sup>); 0.1 (250 mg/dm<sup>3</sup>) and 0.16 % (400 mg/dm<sup>3</sup>) after their action on E. coli ATCC 25922 during exposures of 30 and 60 min by the suspension method with washing of bacteria from the disinfectant, subsequent cultures and their accounting. The phenolic coefficient was determined by the method of serial dilutions of "Diolaide" and phenol from a concentration of 1:50 to 1:2834.7 for effects on E. coli ATCC 25922 for 10 and 30 minutes. The protein coefficient was determined with E. coli ATCC 25922 at exposures of 10 and 30 min, by the method of double serial dilutions of "Diolaide" alone and in combination with inactivated blood serum to simulate protein contamination. Methods: microscopic, cultural, biochemical, statistical. According to the analysis of the results of research on the dilution of "Diolaid" in concentrations of 0.06; 0.1 and 0.16 (%) for exposures of 30 and 60 min showed an effective bactericidal effect in the absence of a bacteriostatic effect, as evidenced by the complete absence of growth of E. coli ATCC 25922 on the media during the incubation period of 48 and 72 h, with its intensive growth in controls. It was established that the phenolic coefficient of "Diolaide" corresponded to the indicator of 12.7. The protein index was 2.76 units, testifying that due to protein contamination of the surfaces intended for "Diolaid" disinfection, its bactericidal efficiency decreased by 2.76 times. Therefore, the working solutions of "Diolide" at concentrations of 0.06% (150 mg/dm<sup>3</sup> of chlorine dioxide) and higher for 30 minutes or longer provided complete neutralization of E. coli ATCC 25922 without the manifestation of a bacteriostatic effect. The phenolic coefficient of "Diolaide" was 12.7 times higher than that of phenol. The protein index "Diolaide" confirmed a decrease in bactericidal efficiency due to protein pollution by 2.76 times.*

**Keywords:** disinfectant means, "Diolayd", test culture of E. coli ATCC 25922, bactericidal activity, phenol coefficient, protein index.

**ВИЗНАЧЕННЯ НАСЛІДКІВ БАКТЕРИЦИДНОЇ ДІЇ НА БАКТЕРІЇ *E. COLI* НОВОГО ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ «ДІОЛАЙД», ЙОГО ФЕНОЛЬНОГО КОЕФІЦІЄНТУ ТА БІЛКОВОГО ІНДЕКСУ**

**О. М. Чечет, В. Л. Коваленко, О. І. Горбатюк, О. С. Гейдей, О. Л. Кравцова, В. О. Андріяшук, І. В. Мусієць, Д. О. Ординська**

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

Через поширення стійкості мікроорганізмів до багатьох дезінфектантів актуальним є пошук нових, ефективних і дешевих засобів. Метою роботи було визначення часової експозиції, ефективної бактерицидної концентрації, відсутності бактеріостатичного ефекту нового дезінфікуючого засобу «Діолайд» за дії на тест-культуру *E. coli* ATCC 25922; визначення фенольного коефіцієнту та білкового індексу. Визначення бактеріостатичних властивостей і оптимальної бактерицидної концентрації «Діолайд» проводили з робочими розчинами 0,04 (100 мг/дм<sup>3</sup> за двоокисом хлору); 0,06 (150 мг/дм<sup>3</sup>); 0,1 (250 мг/дм<sup>3</sup>) та 0,16 % (400 мг/дм<sup>3</sup>) після їх дії на *E. coli* ATCC 25922 за експозицій 30 і 60 хв суспензійним методом з відмиванням бактерій від дезінфектанту, подальшими посівами та їх обліком. Фенольний коефіцієнт визначали методом серійних розведень «Діолайд» і фенолу від концентрації 1:50 до 1:2834,7 за дії на *E. coli* ATCC 25922 протягом 10 і 30 хв. Білковий коефіцієнт визначали з *E. coli* ATCC 25922 за експозицій 10 і 30 хв, методом подвійних серійних розведень «Діолайд» окремо та у поєднанні з інактивованою сироваткою крові для імітації білкового забруднення. Методи: мікроскопічний, культуральний, біохімічний, статистичний. За аналізом результатів досліджень розведення «Діолайд» у концентраціях 0,06; 0,1 та 0,16 (%) за експозиції 30 і 60 хв проявляли ефективну бактерицидну дію за відсутності бактеріостатичного ефекту, що засвідчено повною відсутністю росту *E. coli* ATCC 25922 на середовищах протягом терміну інкубування 48 та 72 год, за її інтенсивного росту у контролях. Встановлено, що фенольний коефіцієнт «Діолайд» відповідав показнику 12,7. Білковий індекс складав 2,76 одиниць, засвідчуючи, що за білкової забрудненості поверхонь, призначених для дезінфекції «Діолайд», його бактерицидна ефективність знижувалася в 2,76 рази. Отже, робочі розчини «Діолайд» за концентрації 0,06 % (150 мг/дм<sup>3</sup> за двоокисом хлору) і вищих за дії 30 хв і довше, забезпечували повне знешкодження *E. coli* ATCC 25922 без прояву бактеріостатичного ефекту. Фенольний коефіцієнт «Діолайд» у 12,7 разів перевищував показники фенолу. Білковий індекс «Діолайд» підтверджував зниження бактерицидної ефективності за білкового забруднення у 2,76 разів.

**Ключові слова:** дезінфекційний засіб, «Діолайд», тестова культура *E. coli* ATCC 25922, бактерицидна активність, фенольний коефіцієнт, білковий індекс.

**Вступ**

Птахівництво України є однією з найбільш інтенсивних і динамічних галузей сільськогосподарського виробництва, яка має можливості в короткі терміни значно збільшувати виробництво висококалорійних дієтичних продуктів – м'яса і яєць, з метою забезпечення людей фізіологічно необхідною нормою харчування. Необхідність подальшого розвитку птахівництва обумовлена також тим, що витрати корму на виробництво білка та енергії є найменшими, порівняно з іншими продуктами тваринного походження, тому це перспективна галузь для України [1–3]. За сучасних умов ведення птахівництва на промисловій основі, зовнішніми негативними факторами є скупчення значної кількості поголів'я птиці на обмеженій території, що негативно впливає на її фізіологічний стан, створює загрозу щодо виникнення та поширення інфекційних, зокрема антропозоонозних захворювань, за одночасного посилення вимог щодо підвищення якості виробництва екологічно чистої продукції птахівничої галузі [4–6]. Дезінфекція продовжує займати важливе місце в комплексі зоотехнічних та ветеринарно-санітарних заходів, набуваючи вирішального значення для підтримання епізоотичного благополуччя і залишаючись найбільш дешевим, доступним, відносно простим та надійним засобом для неспецифічної профілактики захворювань сільськогосподарської птиці та підтримання високої санітарної якості сировини і харчових продуктів від неї [4, 5, 7–9].

## ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

На сьогодні залишається актуальною проблема щодо розробки нових дешевих, безпечних, ефективних дезінфікуючих засобів.

Метою роботи було проведення досліджень з визначення бактерицидної активності та виявлення бактериостатичних властивостей нового дезінфікуючого засобу (ДЗ) «Діолайд» стосовно тестової культури *Escherichia coli* ATCC 25922 після застосування робочих розчинів різних концентрацій із різними часовими експозиціями контакту з вибором оптимальних варіантів концентрацій, визначення фенольного та коефіцієнту білкового індексу.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження були проведені на базі лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології науково-дослідного бактеріологічного відділу (ЛДЗБЕ НДБВ) Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДЛДВСЕ).

Робочі розчини дослідного дезінфектанту «Діолайд» виготовляли із маточних розчинів ДЗ за схемою, представленою на таблиці 1.

#### 1. Виготовлення маточних розчинів дезінфікуючого засобу «Діолайд»

Об'єм маточного розчину з вмістом двоокису хлору, 5000 мг/дм <sup>3</sup>	Кількість компоненту 1, (г)	Кількість компоненту 2, (г)	Необхідний об'єм води, (дм <sup>3</sup> )
1 дм <sup>3</sup>	20,0	20,0	1 дм <sup>3</sup>

Виготовлення робочих розчинів ДЗ «Діолайд» відповідних концентрацій, за вмістом двоокису хлору, проводили за схемою, представленою в таблиці 2.

#### 2. Виготовлення робочих розчинів дезінфікуючого засобу «Діолайд»

Концентрація робочих розчинів:		Витрата маточного розчину «Діолайд» з концентрацією двоокислого хлору 5000 мг/дм <sup>3</sup> для виготовлення робочих розчинів (см <sup>3</sup> )
за двоокисом хлору, (мг/дм <sup>3</sup> )	за активними компонент 1 + компонент 2, (%)	
100	0,04+0,04	20,0
150	0,06+0,06	30,0
250	0,1+0,1	50,0
400	0,16+0,16	80,0

Нами були проведені експериментальні дослідження першого етапу з вивчення бактерицидної активності та відсутності бактериостатичного ефекту *in vitro*, які виконували суспензійним методом з використанням тестової культури *Escherichia coli* ATCC 25922, одержаної із колекції криогенізованих тестових культур мікроорганізмів ЛДЗБЕ НДБВ та попередньо перевірену на чистоту росту, видову ідентичність і стійкість до стандартних дезінфікуючих засобів – хлораміну, перекису водню, глутарового альдегіду і АДБАХ у відповідних концентраціях [10].

Тестову культуру *Escherichia coli* ATCC 25922 попередньо культивували на триптон-соєвому агарі (ТСА) протягом 24 год в термостаті за температури 37±1,0 °С. Було проведено виготовлення бактеріальної суспензії з концентрацією 0,5 ОО за оптичним стандартом каламутності Мак-Фарланда (мікробне навантаження 1,35–3,0×10<sup>8</sup> КУО/см<sup>3</sup>) шляхом змиву колоній добової культури мікроорганізмів з ТСА стерильним фізіологічним розчином в асептичних умовах.

Експериментальні дослідження з оцінки ефективності дії робочих розчинів різних, за вмістом двоокису хлору, концентрацій нового ДЗ «Діолайд» на *Escherichia coli* ATCC 25922 проводили суспензійним методом у трьох повторюваностях щодо кожного робочого розведення дослідного дезінфектанту. Для цього у кожні 3 пробірки вносили по 4,5 см<sup>3</sup> кожного із робочих розведень дослідного ДЗ, розливали в усі пробірки по 0,5 см<sup>3</sup> виготовленої бактеріальної суспензії *Escherichia coli* ATCC 25922 та витримували відповідну часову експозицію – 30 та 60 хв. Для припинення дії дезінфектанту на тестову культуру після відповідного часового контакту, застосовували метод трьохразового відмивання тестових бактерій від дезінфектанту стерильним фізіологічним розчином в асептичних умовах. Відмиті від дослідного дезінфектанту тестові бактерії ешерихій відновлювали до попереднього об'єму (4,5 см<sup>3</sup>) у триптон-соєвому бульйоні (ТСБ), ретельно перемішували та проводили посіви в об'ємі по 0,1 см<sup>3</sup> бактеріальної суспензії з кожного

## ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

робочого розчину дослідного дезінфектанту на 3 чашки з ТСА для визначення бактерицидної активності дослідного препарату та на 3 пробірки з ТСБ для підтвердження відсутності або виявлення бактеріостатичного ефекту дослідного ДЗ «Діолайд».

Поряд із постановкою основного досліду проводили контролі росту (КР) тестової культури *Escherichia coli* ATCC 25922 аналогічно, додаючи стерильний

фізіологічний розчин замість дезінфектанту.

Інкубування посівів проводили в термостаті за температури  $37 \pm 1$  °C упродовж 48 год. За визначення бактерицидної активності дослідного ДЗ попередню оцінку на наявність/відсутність росту відповідних тестових культур проводили через 24 год та заключний облік одержаних результатів – через 48 год.

За визначення бактеріостатичного ефекту дослідного засобу «Діолайд» облік результатів проводили за наявністю або відсутністю росту відповідних тестової культури *Escherichia coli* ATCC 25922 у пробірках з ТСБ через 24 год. За відсутності росту проводили повторні пересіви із кожної добової культури із ТСБ на пробірки із свіжим ТСБ, інкубували наступні 24 год та здійснювали облік результатів аналогічно. За закінчення терміну інкубації і відсутності росту тестових культур у пробірках з ТСБ, проводили наступні пересіви на пробірки із свіжим ТСБ та інкубували наступні 24 год. Заключний облік результатів проводили через 48 год після останнього пересіву. Відсутність росту тестової культури ешерихій на пробірках з ТСБ свідчила про відсутність бактеріостатичного ефекту у дослідного ДЗ «Діолайд». Поява росту тестових бактерій у пробірках на будь-якому етапі інкубування підтверджувала виявлення бактеріостатичного ефекту у дослідного дезінфектанту.

Бактерицидну активність дослідного ДЗ «Діолайд» вважали підтвердженою за відсутності росту тестової культури *Escherichia coli* ATCC 25922 на чашках з ТСА та у пробірках з ТСБ за умови її інтенсивного росту у відповідних контролях росту [10–13].

З метою визначення фенольного коефіцієнту дослідного ДЗ «Діолайд» виготовляли робочі розчини різних концентрацій дослідного дезінфектанту у колбах, починаючи з початкової концентрації 1 : 50 з прогресуючим зменшенням діючої речовини в кожній наступній колбі. Для цього у першу колбу вносили 10 см<sup>3</sup> основного розведення 1 : 50 ДЗ «Діолайд», в інші – по 10 см<sup>3</sup> стерильної дистильованої води. В другу колбу вносили 25 см<sup>3</sup> основного розведення (1:50) мірним циліндром об'ємом 25 см<sup>3</sup>, ретельно перемішували його з дистильованою водою, відбирали в той же циліндр 25 см<sup>3</sup> розчину та переносили в наступну колбу. Після ретельного перемішування, відбирали в той же циліндр 25 см<sup>3</sup> розчину ДЗ і переносили в наступну колбу і т. д. до 13-ої колби включно, з якої 25 см<sup>3</sup> розчину виливали.

Схема приготування концентрацій робочих розчинів всіх розведень наведена в таблиці 3.

### 3. Розведення розчинів та концентрація в них дослідного ДЗ «Діолайд», за вмістом двоокису хлору, для проведення досліджень

№ з/п	Розведення дезінфектанту	Концентрація дезінфектанту, за двоокисом хлору, %	№ з/п	Розведення дезінфектанту	Концентрація дезінфектанту, за двоокисом хлору, %
1.	1:50	2,00	8.	1:527,1	0,189
2.	1:70	1,428	9.	1:737,9	0,135
3.	1:98	1,020	10.	1:1033,1	0,096
4.	1:137,2	0,728	11.	1:1464,3	0,068
5.	1:192,1	0,520	12.	1:2024,8	0,049
6.	1:268,9	0,371	13.	1:2834,7	0,035
7.	1:376,5	0,265			

Фенольний коефіцієнт показує в скільки разів бактерицидне розведення дослідного ДЗ більше або менше бактерицидного розведення еталонного зразка фенолу, що дає можливість порівняльного аналізу одержаних результатів.

Для досліджень використовували хімічно чисту кристалічну карболову кислоту (фенол) без домішок води, яку розчиняли у співвідношенні 1 : 50 та виготовляли наступні розведення аналогічно за схемою розведення дослідного дезінфектанту. Отримували два ряди колб: в одному ряду – колби з розведеннями фенолу, в іншому – з розведеннями дослідного дезінфектанту «Діолайд».



Виготовляли бактеріальну суспензію з мікробним навантаженням  $2 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> із попередньо культивованої добової культури *Escherichia coli* ATCC 25922 та вносили її у колби по 0,5 см<sup>3</sup> з інтервалом у 30 сек.

Після внесення бактеріальної суспензії тестових бактерій ешерихії колби струшували, витримували експозицію 10 і 30 хв. По закінченню терміну контакту дослідного ДЗ з тестовою культурою ешерихій проводили посіви та ставили до термостату. Після культивування посівів у термостаті протягом 24 год здійснювали облік результатів за наявністю росту бактерій тестової культури після дії відповідних розведень. Експериментальні дослідження повторювали триразово.

По завершенню досліду проводили обчислення середнього бактерицидного

розведення фенолу і дослідного ДЗ «Діолайд» за контакту протягом 10 та 30 хв. Одержані показники бактерицидного розведення дослідного ДЗ за 10 та 30 хв контакту ділили на показники бактерицидного розведення фенолу за аналогічного терміну контакту. Одержані показники додавали та ділили на 2. Отримана в результаті обрахунків величина представляє величину фенольного коефіцієнту дослідного ДЗ «Діолайд», яка показувала у скільки разів дослідний дезінфектант діяв слабше або сильніше від фенолу [14].

Білковий індекс характеризує ступінь зниження активності дезінфекційного засобу в присутності високомолекулярного білка. Для визначення білкового індексу дослідного ДЗ «Діолайд» нами було виготовлено ряд серійних розведень дослідного дезінфектанту подвійної концентрації (перше основне розведення 2 : 50). Після цього із кожного розведення ДЗ відбирали по 5 см<sup>3</sup> та переносили у 2 ряди колб. Отримували 2 ряди розведень відповідної концентрації. Перший ряд колб із розведеннями ДЗ використовували для визначення бактерицидного розведення без умісту білка, другий – за його присутності. В кожному із колб першого ряду вносили по 5 см<sup>3</sup> завчасно культивованої і виготовленої добової бактеріальної суспензії тестової культури *Escherichia coli* ATCC 25922 з мікробним навантаженням  $2 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> з інтервалом 30 сек.

В колби другого ряду додавали по 5 см<sup>3</sup> такої ж бактеріальної суспензії з додаванням інактивованої сироватки крові ВРХ з розрахунку 1 см<sup>3</sup> сироватки на кожні 0,2 см<sup>3</sup> бактеріальної суспензії та додаванням 3,8 см<sup>3</sup> дистильованої води на кожне розведення дослідного ДЗ із інтервалом 30 сек. Одночасно ставили контроль (контроль життєдіяльності культури), додаючи до 9,8 см<sup>3</sup> стерильної дистильованої води 0,2 см<sup>3</sup> бактеріальної суспензії з мікробним навантаженням  $2 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>. Другий контроль (контроль інактивації сироватки) ставили шляхом додавання до 8,8 см<sup>3</sup> стерильної дистильованої води 0,2 см<sup>3</sup> аналогічно виготовленої бактеріальної суспензії з таким же мікробним навантаженням –  $2 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>.

Для визначення білкового індексу показник бактерицидного розведення дослідного ДЗ «Діолайд» за 10 та 30 хв експозиції контакту за відсутності білка ділили на відповідний показник бактерицидного розведення у досліді з білком. Одержані дані додавали та ділили на 2. Отриманий показник характеризував рівень білкового індексу дослідного ДЗ «Діолайд» [14].

### Результати досліджень та їх обговорення

Нам представляло інтерес провести дослідження першого етапу, які б засвідчили ефективність обраних концентрацій, за вмістом двоокису хлору, робочих розчинів дезінфектанта «Діолайд» за різних термінів контакту з тестовою культурою *Escherichia coli* ATCC 25922, як представника грамнегативних патогенних бактерій.

Аналіз одержаних результатів після проведення експериментальних випробувань показав, що ДЗ «Діолайд» у робочій концентрації 0,04 % (100 мг/дм<sup>3</sup> за двоокисом хлору) володів низькою бактерицидною ефективністю за його дії протягом 30 хв на тестову культуру *Escherichia coli* ATCC 25922, що підтверджувалося наявністю росту окремих колоній ешерихій на чашках з посівами на TSA за суцільного росту тестових бактерій у контролі. Більше того, малоефективна бактерицидна дія була ще раз підтверджена ростом культури у вигляді помутніння бульйону з випаданням осаду у пробірках з ТСБ за інтенсивного росту у контролі.

За дії протягом 60 хв робочого розчину 0,04 % концентрації (за двоокисом хлору) його бактерицидна дія виявилася також не достатньо ефективною тому, що на одній третині чашок з посівами було виявлено ріст окремих колоній тестових бактерій ешерихій за інтенсивного росту їх у контролі (табл. 4).

## ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

### 4. Результати досліджень з вивчення бактерицидної активності та бактеріостатичного ефекту за дії на тест-культуру нового ДЗ «Діолайд»

Концентрації за окислом хлору робочих розчинів дослідного ДЗ, %, мг/дм <sup>3</sup>	Облік росту тестової культури <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 на поживних середовищах після дії різних концентрацій ДЗ «Діолайд» за різних часових експозицій							
	культивування посівів упродовж							
	бактерицидна активність				наявність бактеріостатичного ефекту			
	48 год				72 год			
	триптон-соевий агар (ТСА)				триптон-соевий бульйон (ТСБ)			
	номери пробірок у досліді				номери пробірок у досліді			
1	2	3	контроль росту	1	2	3	контроль росту	
Тестова культура <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922								
Експозиція 30 хв								
0,04 % (100)	поодинокі колонії	поодинокі колонії	поодинокі колонії	СР	помутніння середовища, ріст	помутніння середовища, ріст	помутніння середовища, ріст	інтенсивне помутн. осад
0,06 % (150)	-	-	-	СР	-	-	-	інтенсивне помутн. осад
0,1 % (250)	-	-	-	СР	-	-	-	інтенсивне помутн. осад
0,16 % (400)	-	-	-	СР	-	-	-	інтенсивне помутн. осад
Тестова культура <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922								
Експозиція 60 хв								
0,04 % (100)	поодинокі колонії	-	-	СР	помутніння середовища, ріст	-	помутніння середовища, ріст через 48 год	інтенсивне помутн. осад
0,06 % (150)	-	-	-	СР	-	-	-	інтенсивне помутн. осад
0,1 % (250)	-	-	-	СР	-	-	-	інтенсивне помутн. осад
0,16 % (400)	-	-	-	СР	-	-	-	інтенсивне помутн. осад

Примітки: «-» – ріст відсутній; «СР» – суцільний ріст.

У аналогічних пробірках з посівами на ТСБ через 24 год інкубування у двох третинах пробірок було виявлено ріст бактерій, про що свідчило помутніння бульйону та випадання осаду. І хоча на двох третинах чашок з посівами не було виявлено росту колоній тестової культури, проте за вивчення бактеріостатичного ефекту і обліку результатів через 48 год після посіву, спостерігалось інтенсивне помутніння бульйону з випаданням осаду, що підтверджувало наявність бактеріостатичних властивостей у дослідного дезінфектанту за такої концентрації двоокису хлору у робочому розчині «Діолайд».

Робочі розчини ДЗ «Діолайд» з більшими, за вмістом двоокису хлору, концентраціями – 0,06; 0,1 та 0,16 (%) були ефективними щодо бактерицидної дії, що підтверджено відсутністю будь-якого росту за експозиції 30 та 60 хв, за суцільного росту тестової культури у контролі. Більше того, за вивчення бактеріостатичного ефекту дослідного ДЗ у відповідних концентраціях його наявність не була підтвердженою, оскільки росту бактерій *Escherichia coli* ATCC 25922, незалежно від експозиції контакту (30 та 60 хв) у пробірках з ТСБ не було виявлено за інтенсивного росту при цьому у контролі.

Таким чином, малоефективним виявлений робочий розчин з концентрацією 0,04 % (за вмістом двоокису хлору), за якої був виявлений ріст окремих колоній на ТСА і ТСБ, незалежно від терміну контакту (30 та 60 хв) з тестовою культурою *Escherichia coli* ATCC 25922 за інтенсивного росту, при цьому, тестових бактерій у контролі.

## ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

Робочі розведення дослідного ДЗ «Діолайд» у концентраціях за двоокисом хлору 0,06; 0,1 та 0,16 (%) за часового контакту 30 та 60 хв проявляли ефективну бактерицидну дію та відсутність бактериостатичного ефекту, що підтверджено повною відсутністю росту тестових бактерій ешерихій на ТСА та ТСБ упродовж терміну інкубування 48 та 72 год відповідно за інтенсивного росту культури у контролях (табл. 5).

### 5. Величина фенольного коефіцієнту та білкового індексу за дії дослідного ДЗ «Діолайд» на тестову культуру *Escherichia coli* ATCC 25922

Дослідні дезінфекційні засоби	Концентрація ДЗ «Діолайд» за вмістом двоокису хлору, %		Фенольний коефіцієнт, розрахунок/ величина	Білковий індекс, розрахунок/ величина
	експозиція (хв)			
	10	30		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Фенол	1:98	1:192,8		
«Біолайд»	1:1464,3	1:2024,8	(14,9+10,5):2=12,7	
«Біолайд» з білковим навантаженням	1:527,1	1:737,9		(2,77+2,74):2=2,76

Отже, найменшою ефективною концентрацією дослідного ДЗ «Діолайд» визнано робочу концентрацію 0,06 % (150 мг/дм<sup>3</sup> за двоокисом хлору) як таку, що за 30 хв контакту забезпечує повне знешкодження *Escherichia coli* ATCC 25922.

За аналізом одержаних результатів досліджень встановлено, що фенольний коефіцієнт ДЗ «Діолайд» складає 12,7 та вказує на перевищення аналогічних показників за дії фенолу в 12,7 разів. Білковий індекс складає 2,76 одиниць, засвідчуючи те, що присутність білка, який створює забрудненість поверхонь, призначених для дезінфекції ДЗ «Діолайд», знижує його бактерицидну ефективність у 2,76 рази.

Відомо, що ринок дезінфікуючих засобів (ДЗ) в Україні представлений широким асортиментом дезінфектантів, більшість з яких містять у своєму складі одну або декілька діючих речовин. Проте, практика показала, що більшість засобів повною мірою не відповідають сучасним вимогам щодо універсальності, розчинності у воді, бактерицидної активності стосовно широкого спектру мікроорганізмів. Більше того, такі ДЗ здатні впливати на формування стійкості мікроорганізмів щодо дезінфектантів, проявляти агресивність стосовно різних матеріалів і об'єктів довкілля та викликають сумніви щодо екологічної безпеки [15–18]. Останнім часом у створенні та виробництві дезінфектантів досягнуто значних успіхів, завдячуючи обраному напрямку на розробку багатокомпонентних рецептур засобів дезінфекції, у яких діючі речовини поєднані в оптимальних співвідношеннях, мають широкий спектр антимікробної активності, що забезпечує знищення збудників бактеріальних інфекцій та їх вегетативні і спорові форми, не спричиняючи руйнування матеріалів і об'єктів, які ними обробляються [19, 20].

Нами досліджені бактерицидні та бактериостатичні властивості ДЗ «Діолайд» та підтверджено його ефективність за низьких концентрацій і оптимальних експозицій часу, завдячуючи двоокису хлору у складі комплексного дезінфектанту, дослідний засіб є нечутливим до змін активної реакції середовища, жорсткості і мінералізації води, що підтверджують і інші науковці. Проте, ряд вчених наголошують на його високій токсичності, пожежо- та вибухонебезпечності, що створює певні проблеми за його виготовлення та дотримання вимог щодо безпеки працюючих [8, 21, 22]. Але бактерицидна ефективність препаратів з двоокисом хлору у своєму складі є беззаперечною.

### Висновки

Встановлено, що найменшою ефективною бактерицидною концентрацією робочого розчину ДЗ «Діолайд» є 0,06 % (150 мг/дм<sup>3</sup> за двоокисом хлору) концентрація, яка забезпечує повне знешкодження грамнегативних *Escherichia coli* ATCC 25922 та не проявляє здатності до бактериостатичного ефекту за терміну контакту 30 хв і довших. Фенольний коефіцієнт ДЗ «Діолайд» у 12,7 разів перевищує аналогічні бактерицидні показники фенолу.

Білковий індекс ДЗ «Діолайд» з додаванням інактивованої стерильної сироватки крові, для імітації білкового забруднення, знижує ефективність дії дезінфектанту у 2,76 разів.

*Перспективи подальших досліджень* полягають у вивченні бактерицидної активності робочих розчинів різних концентрацій нового ДЗ «Діолайд» за різних експозицій контакту з тестовими культурами мікроорганізмів за імітації білкового забруднення різних рівнів із застосуванням кахельних тест-об'єктів.

### Referenses

1. Polehenka, M. A. (2019). Analiz suchasnoho stanu vyrobnytstva produktsii ptakhivnytstva v Ukraini. *Ekonomika ta Derzhava*, 3, 137–143. doi: 10.32702/2306-6806.2019.3.137 [In Ukrainian].
2. Iatsiv, S. F. (2021). Stan i perspektyvy rozvytku ptakhivnytstva u silskohospodarskykh pidpriemstvakh Ukrainy. *Ahrosvit*, 16, 26–33. doi: 10.32702/2306-6792.2021.16.26 [In Ukrainian].
3. Kochish, I. I., Smolenskij, V. I., Nuraliev, E. R., & Kochish, O. I. (2020). Kompleksnaya programma obespecheniya biologicheskoy bezopasnosti promyshlennykh pticevodcheskih hozyajstv yaichnogo napravleniya. *Veterinariya*, 2, 8–13. doi: 10.30896/0042-4846.2020.23.2.08-13 [in Russian].
4. Kasianenko, O. I., Berezovskyi, A. V., Kasianenko, S. M., & Dolbonosova, R. V. (2019). Analiz rynku dezinfikuiuchykh zasobiv v Ukraini. *Naukovo-Tekhnichniy Biuletен Derzhavnogo Naukovo-Doslidnogo Kontrolnogo Instytutu Veterynarnykh Preparativ ta Kormovykh Dobavok i Instytutu Biologii Tvaryn*, 20 (2), 349–445. doi: 10.36359/scivp.2019-20-2.56 [In Ukrainian].
5. Hernández-Navarrete, M. J., Celorrio-Pascual, J. M., Lapresta Moros, C., & Solano Bernad, V. M. (2014). Fundamentos de antisepsia, desinfección y esterilización. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*, 32 (10), 681–688. doi: 10.1016/j.eimc.2014.04.003
6. Yakubik, O. L., & Litvinova, Z. A. (2022). Mikrobnaya obsemenennost obektov promyshlennogo pticevodstva. *Veterinariya*, 2, 44–47. doi: 10.30896/0042-4846.2022.25.2.44-47 [In Russian].
7. Carter, R., & Joll, C. A. (2017). Occurrence and formation of disinfection by-products in the swimming pool environment: A critical review. *Journal of Environmental Sciences*, 58, 19–50. doi: 10.1016/j.jes.2017.06.013
8. Dodonova–Sudina, K., & Hrabovska, O. (2016). Porivnialna diia riznykh dezinfektantiv u tekhnologii pidhotovky vody. *Materialy II Vseukrainskoi naukovo–praktychnoi konferentsii «Aktualni problemy khimii i khimichnoi tekhnologii»*, 21–23 lystopada 2016 r., Kyiv: Natsionalnyi universytet kharchovykh tekhnologii Retrieved from: [http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/24837/1/Aktualni\\_problemy\\_khimiyi\\_i\\_khimichnoyi\\_tekhnolohiyi.pdf](http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/24837/1/Aktualni_problemy_khimiyi_i_khimichnoyi_tekhnolohiyi.pdf). [In Ukrainian].
9. Palyi, A., Zavhorodnyi, A., Stehnyi, B., & Herylovykh, A. (2015). Yssledovanye efektyvnosti sovremennukh otechestvennykh dezynfytsyruyushchykh sredstv v systeme protyvotuberkuleznykh meropryiatyi. *Selskokhoziaistvennaia Nauka i Praktyka*, 2 (2), 26–31. doi: 10.15407/agrisp2.02.026 [In Russian].
10. Harkavenko, T. O., Kovalenko, V. L., Horbatiuk, O. I., Pinchuk, N. H., Kozytska, T. H., Harkavenko, B. M., & Ordynska, D. O. (2020). *Metodychni rekomendatsii z vyznachennia bakterytsydnoi aktyvnosti ta kontroliu vidсутnosti bakteriostatychnoho efektu dezinfikuiuchykh zasobiv*. Kyiv: DNDILDVSE [In Ukrainian].
11. DSTU EN 1040:2004 “Zasoby khimichni dezinfektsiini ta antyseptychni. Osnovna bakterytsydna aktyvnist. Chastyna I. Metod vyprovovuvannia ta vymohy (stadiia 1)”, metodyk YeS, nyny diiuchoho standartu DIN EN 1656:2010-03 “Khimichni dezinfektsiini ta antyseptychni zasoby – kilkisnyi suspenziyni test dlia vyznachennia bakterytsydnoi aktyvnosti khimichnykh i antyseptychnykh zasobiv, yaki zastosovuiutsia v haluzi veterynarii – Metod vyznachennia ta vymohy (faza 2, krok 1)”. [In Ukrainian].
12. Standart EN 12353 “Khimichni dezinfikuiuchi ta antyseptychni zasoby – zberihannia test-mikroorhanizmiv, shcho vykorystovuiutsia dlia vyznachennia bakterytsydnoi, mikobakterytsydnoi, sporotsydnoi ta funhitsydnoi aktyvnosti”. [In Ukrainian].
13. Ivchenko, V. M. (2004). *Dovidnyk sanitarno-mikrobiolohichnykh metodiv doslidzhen produktiv ta obiektiv dovkillia*. Bila Tserkva [In Ukrainian].



14. Yakubchak, O. M., Khomenko, V. I., Kovalenko, V. L., Yashchenko, M. F., Oliinyk, L. V., Midyk, S. V., Adamenko, L. V., & Khomiak, R. V. (2010). *Veterynarna dezinfektsiia, dezodoratsiia, dezinseksiia, dezinvasiia, deratyziatsiia*. Kyiv: «Kompaniia Bioprom» [In Ukrainian].
15. Lahotiuk, V. O. (2020). Osoblyvosti formuvannia stratehii zabezpechennia konkurentospromozhnosti pidpriemstv haluzi ptakhivnytstva zalezno vid kupivelnoi spromozhnosti spozhyvachiv. *Ahrosvit*, 1, 77–82. doi: 10.32702/2306-6792.2020.1.77 [In Ukrainian].
16. Rodionov, K. O. (2016). Znachennia vyrobnychoi sanitarii i systemy upravlinnia bezpechnosti kharchovykh produktiv (KhASSP). *Veterynarna Medytsyna*, 102, 217–219. [In Ukrainian].
17. Dorozhkin, V. I., Popov, N. I., Prokopenko, A. A., & Boshenin, Yu. I. (2018). Ekologicheski bezopastnye dezinficiruyushie preparaty dlya obrabotki pomeshenij i oborudovaniya, kontaminirovanykh mikroorganizmami 2-oi grupy ustojchivosti. *Veterinariya*, 4, 50–53. doi: 10.30896/0042-4846.2018.21.4.50-53 [In Russian].
18. Montagna, M. T., Triggiano, F., Barbuti, G., Bartolomeo, N., De Giglio, O., & Diella, G. (2019). Study on the In Vitro Activity of Five Disinfectants against Nosocomial Bacteria. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16 (11), 1895. doi: 10.3390/ijerph16111895
19. Zhukorskyi, O. M., Kryvokhyzha, Ye. M., & Lesyk, O. B. (2018). Analiz obsiahiv zabrudnennia gruntiv vidpratovanymy mynyny zasobamy hospodarstvamy naseleння, shcho utrymuiut koriv, ovets i kiz. *Visnyk Ahrarnoi Nauky*, 3, 40–44. [In Ukrainian].
20. Trishyna, V. Yu., & Huliaiev, V. M. (2020). Critical factors influencing the general electoral process of broiler production. *Veterinary medicine, technology of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 186–191. doi: 10.31890/vtpp.2020.05.33
21. Ma, J. W., Huang, B. S., Hsu, C. W., Peng, C. W., Cheng, M. L., Kao, J. Y., Way, T. D., Yin, H. C., & Wang, S. S. (2017). Efficacy and Safety Evaluation of a Chlorine Dioxide Solution. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14 (3), 329. doi: 10.3390/ijerph14030329
22. Solomakha, K. V., & Harkavyi, S. I. (2021). Vykorystannia hipokhlorytu natriiu pry znezarazhuvanni vody basynu sportyvnoho kompleksu natsionalnoho tekhnichnoho universytetu (SK NTU). *Ukrainskyi Zhurnal Medytsyny, Biologii ta Sportu*, 6 (1 (29)), 168–172. doi: 10.26693/jmbs06.01.168 [In Ukrainian].

Стаття надійшла до редакції: 07.07.2022 р.

### Бібліографічний опис для цитування:

Чечет О. М., Коваленко В. Л., Горбатюк О. І., Гайдей О. С., Кравцова О. Л., Андріящук В. О., Мусієць І. В., Ординська Д. О. Визначення наслідків бактерицидної дії на бактерії *E. coli* нового дезінфікуючого засобу «Діолайд», його фенольного коефіцієнту та білкового індексу. *Вісник ПДАА*. 2022. № 3. С. 150–158.

© Чечет Ольга Миколаївна, Коваленко Вячеслав Леонідович, Горбатюк Ольга Іванівна, Гейдей Ольга Сергіївна, Кравцова Оксана Леонідівна, Андріящук Валентина Олександрівна, Мусієць Ірина Володимирівна, Ординська Діана Олександрівна, 2022